

氏 名	村 橋 毅
生 年 月 日	
本 籍	石川県
学 位 の 種 類	博士（薬学）
学 位 記 番 号	博甲第253号
学位授与の日付	平成10年3月25日
学位授与の要件	課程博士（学位規則第4条第1項）
学位授与の題目	ニトロアレーンの分析法開発と大気内動態解析
論 文 審 査 委 員	（主査）早川 和一 （副査）田崎 和江，島田 和武，中垣 良一，木津 良一

学位論文要旨

英文要旨

Two HPLC methods for determination of nitroarenes were developed. One was simultaneous determination method for four nitroarenes (1,3-, 1,6- and 1,8-dinitropyrenes and 1-nitropyrene) and ten polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs; fluoranthene, pyrene, benzo[a]anthracene, chrysene, benzo[b]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, benzo[a]pyrene, dibenz[a,h]anthracene, benzo[ghi]perylene and indeno[1,2,3-cd]pyrene). The other was a method for small amount of nitroarenes such as 2-nitrofluoranthene, 2- and 4-nitropyrenes and 6-nitrochrysene.

Atmospheric behaviors of nitroarenes were analyzed by these analytical methods. Atmospheric concentrations of 1,3-, 1,6- and 1,8-dinitropyrenes and 1-nitropyrene in downtown area of Kanazawa were higher from 6:00 to 20:00 and lower from 0:00 to 6:00. Large correlation coefficients (>0.8) between their nitroarene concentrations and traffic volume suggested that main source of their nitroarenes was vehicles. 4-nitropyrene and 6-nitrochrysene were detected in diesel exhaust particulates and their concentrations were higher from 10:00 to 18:00 and lower from 0:00 to 6:00. On the other hand, concentrations of 2-nitrofluoranthene and 2-nitropyrene were highest from 16:00 to 18:00 suggesting that the two nitroarenes were formed in the atmosphere. Most of each nitroarene

(>67%) existed in fine particulates (diameter of particulates were smaller than 1.1 μm) which reached pulmonary alveol more easily. Sum of mutagenic contribution of above eight nitroarenes were estimated to be 6.0%.

1. 序論

日本人のがんのうちで肺がんは年々死亡率が増加しており、この一因として大気環境の悪化が疑われている。大気中には多環芳香族炭化水素 (PAH) やそのニトロ誘導体であるニトロアレーンなどの発がん物質が存在するが、このうち前者はこれまで多くの研究が報告されている。一方、後者は極めて強い発がん性／変異原性を有するにもかかわらず、その大気中濃度は極めて低く、十分な感度の分析法は開発されておらず、したがって、大気内濃度の実態はほとんど把握されていない。そこで、著者が所属する研究室では化学発光検出高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた超高感度ニトロアレーン分析法を開発した。本研究では、このニトロアレーン分析法を改良し、この分析法を用いニトロアレーンの大気内動態、粉じんの粒径別分布及び大気変異原性における寄与を明らかにした。

2. ニトロアレーン分析法の開発

従来の分析法ではニトロアレーンとPAHは個別に分析していた。そこで、これらを迅速に分析するため、まず、HPLCに適用する試料中のアミノアレーン (ニトロアレーンの還元体) 及びPAHを分離用ミニODSカラムを用いて大別した後、アミノアレーン及びPAHをそれぞれの最適条件で分析するHPLCシステムを開発した (Fig. 1)。この分析法では、4種ニトロアレーン (1,3-, 1,6-, 1,8-ジニトロピレン (DNP), 1-ニトロピレン (NP)) と10種PAH (フルオランテン, ピレン, ベンツ

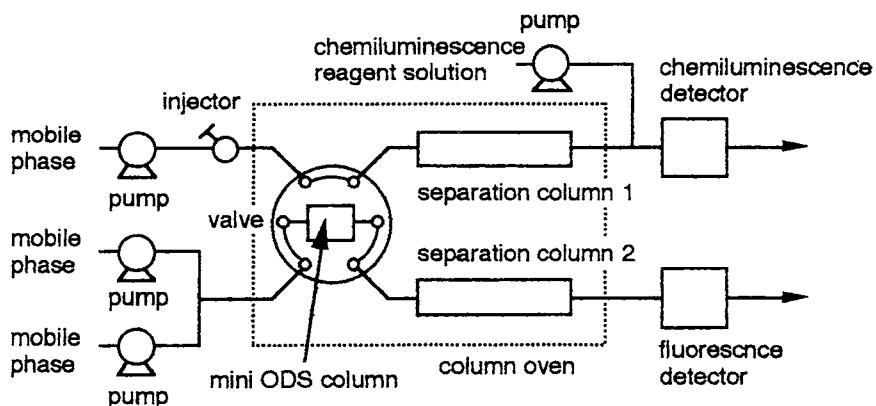


Fig. 1. Schematic Diagram of HPLC System for Simultaneous Determination of Aminoarenes and PAHs

[a]アントラセン、クリセン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[a]ピレン、ジベンツ[a,h]アントラセン、ベンゾ[gh]ペリレン及びインデノ[1,2,3-cd]ピレン)の14化合物が60 min以内に測定可能となり、従来法と比べ半分以下に短縮できた。

また、大気中には1-NPよりはるかに濃度が低く、上記同時分析法では測定が困難なニトロアレーンも存在する。このような微量ニトロアレーンを対象とし、分析法を開発した (Fig. 2)。ニトロアレーンとその還元体 (アミノアレーン) のODSカラムによる分離特性の違いを利用することにより、2-NF, 2-, 4-NP, 6-NCをそれぞれ分離でき、分離後のカラム濃縮と組み合わせることにより、これら微量ニトロアレーンの定量を可能とした。HPLCに注入された試料はまず第1の分離カラムに導入される。ここで目的化合物を含むバンドは他成分から分離される。溶出された化合物は還元カラムを通過し、ニトロアレーンはアミノアレーンに変換される。目的化合物を含むバンドは濃縮カラムに濃縮する。スイッチングバルブを切り替えることにより目的化合物を第2の分離カラムに導入し、分離・検出する。

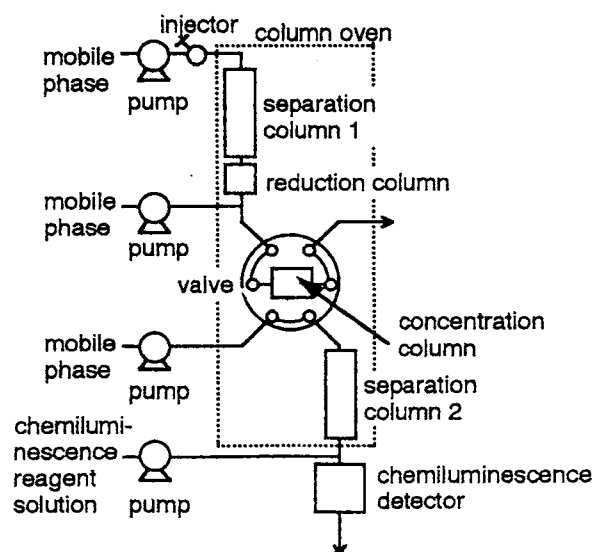


Fig. 2. Schematic Diagram of the HPLC System for the Determination of 1-, 2- and 4-NPs, 2-NF and 6-NC

3. ニトロアレーンの大気内動態の解析

大気中ニトロアレーン濃度 金沢市における大気中のニトロアレーン濃度は都心の方が郊外より高かった。PAH濃度も都心の方が郊外より高かったが、濃度差はニトロアレーンの方が大きかった。都心の濃度に対する郊外の相対濃度はDNP及び1-NPで0.068～0.094、ベンゾ[a]ピレンで0.52であり、組成に違いが見られた。

ニトロアレーンの発生源としてのディーゼル車の寄与 ニトロアレーンの発生源について検討した。都心における1,3-, 1,6-, 1,8-DNP及び1-NP濃度は日中から夜（6:00～20:00）に高く深夜（0:00～6:00）に低い日内変動が認められた（Fig. 3）。これらの濃度推移と交通量との間には強い相関（相関係数 $r=0.85$, 0.89 ）が認められ、さらに主要発生源が自動車である一酸化炭素、一酸化窒素とも強い相関（ $r=0.85\sim0.91$ ）を示した。このことより、金沢市の都心における大気中1,3-, 1,6-, 1,8-DNP及び1-NPの主要発生源は自動車であることが明らかとなった。次に、大気中ニトロアレーン量におけるディーゼル車とガソリン車のニトロアレーン排出寄与率を検討した結果、ディーゼル車の寄与はDNPで約90%、1-NPでほぼ99%以上と試算され、極めて大きいことが明らかになった。

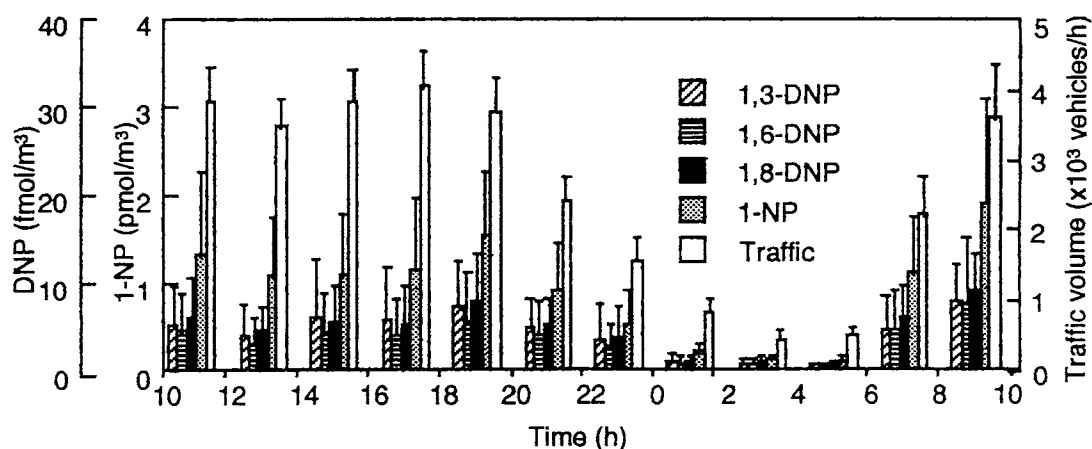


Fig. 3. Diurnal Concentrations of 1,3-, 1,6- and 1,8-DNPs and 1-NP and Variation of Traffic Volume
Each box and bar represents mean and SD ($n=8$), respectively.

ニトロアレーンの大気中での二次生成 ニトロアレーンの大気中での二次生成について検討した。ディーゼル排ガス粉じんから4-NP、6-NCは検出されたが、2-NF、2-NPは検出されなかった。また、大気中4-NP、6-NC濃度の日内変動は1-NPの濃度推移と強い相関を示した (Fig. 4)。これに対し、2-NF、2-NP濃度は、1-NPより約6 h遅れて16:00～18:00に最高濃度に達する日内変動を示したことより、これらは大気中で二次生成することが考えられた。

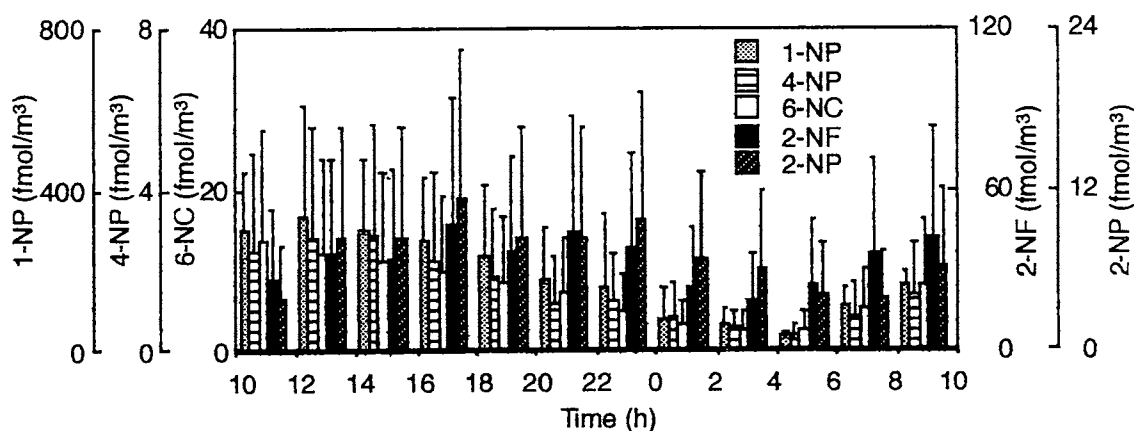


Fig. 4. Diurnal Concentrations of 2-NF, 1-, 2- and 4-NPs and 6-NC
Each box and bar represents mean and SD, respectively ($n=3$).

ニトロアレーンの粉じん粒径別分布 アンダーセンハイボリウムエアサンプラーで粉じんを粒径別に捕集し、ニトロアレーンを分析した。その結果、大気粉じんは

その粒径が1.1 μm 以下と7.0 μm 以上のものが多く、それぞれ全粉じん量の39%、36%であった。これに対し、ニトロアレーンは粒径が1.1 μm 以下の分画に多く(67～82%)分布した。直接変異原性も粒径が1.1 μm 以下の分画に多く(68%)分布した。これらのことから、ニトロアレーン及び直接変異原性は肺の奥まで到達し沈着しやすい粒径が1.1 μm 以下の分画に集中することが明らかになった。

大気変異原性におけるニトロアレーンの寄与 開発した高感度分析法とAmes試験とを併用し、大気変異原性におけるニトロアレーンの寄与を試算した。金沢市都心の一例では、1,3-, 1,6-, 1,8-DNPは濃度レベルが低いにもかかわらず、それぞれ0.9%, 1.1%, 2.7%の寄与率を示し、肺がんの観点からも重要な研究対象化合物であることが明らかになった。

学位論文審査結果の要旨

平成10年1月26日の第1回審査委員会で審査方針を決定した。同年2月2日に口頭発表と試問を行い、引き続き開催した第2回審査委員会で協議の結果以下のとおり判定した。

近年の肺癌増加と大気環境の悪化との関連が指摘され、大気中に存在する発癌物質として多環芳香族炭化水素やニトロ多環芳香族炭化水素(ニトロアレーン)が見い出されている。前者に比較して後者には極めて強い変異原性を有するものが多いにもかかわらず、高感度分析法がなかったためにその汚染の実態はほとんどわからなかった。申請者は、まず過シュウ酸エステル化学発光を検出原理とする高速液体クロマトグラフィーを改良して、大気粉塵中に存在する主要ニトロアレーンを定量可能とした。次いで、この方法を用いてニトロアレーンの都市大気内挙動と毒性に関する以下の事実を明らかにした。1,3-, 1,6-, 1,8-ジニトロピレン及び1-ニトロピレンの主要排出源はディーゼル車であり、大気中濃度は日内変動と季節変動を呈する。2-ニトロフルオランテン及び2-ニトロピレンは大気中で二次生成され、上述のニトロアレーンとは異なる濃度推移を呈する。大気中のニトロアレーンは主として浮遊粉塵の中の微粒子に吸着している。大気粉塵抽出物の直接変異原性におけるニトロアレーンの寄与は無視できない大きさである。これらの研究結果は、有害大気汚染物質のリスクアセスメントに有用な知見を提出している。

以上を総合して、本論文は博士(薬学)に値すると判定した。